

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 21, 1983, pp. 381–386

Cholinesterase (EC 3.1.1.8) mit Butyrylthiocholin-iodid als Substrat: Referenzwerte in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht unter Berücksichtigung hormonaler Einflüsse und Schwangerschaft

Von D. H. den Blaauwen

Dokter J. H. Janszenziekenhuis, Emmeloord, Niederlande
Stadsziekenhuis „De Engelenbergstichting“, Kampen, Niederlande

W. A. Poppe und W. Tritschler

Boehringer Mannheim GmbH, Diagnostica Forschung, Mannheim

(Eingegangen am 5. Juli/6. Dezember 1982)

Zusammenfassung: Für Cholinesterase mit Butyrylthiocholin-iodid als Substrat werden für 25 °C Referenzwerte im Serum angegeben.

Bei Kindern (1–15 Jahre, N = 309) wurden weder eine Altersabhängigkeit noch geschlechtsspezifische Unterschiede gefunden.

Bei Männern (16–94 Jahre, N = 718) wurde ebenfalls keine Altersabhängigkeit gefunden; gegenüber dem Referenzbereich der Kinder ließ sich kein Unterschied in der Lage und Verteilung der katalytischen Konzentrationen an Cholinesterase nachweisen.

Bei Frauen (16–99 Jahre, N = 861) zeigte sich bei den Cholinesterase-Werten ein altersbedingter Unterschied:

Unabhängig von Schwangerschaft oder der Einnahme von hormonalen Kontrazeptiva werden in den jüngeren Lebensjahren (16–39 Jahre) niedrigere katalytische Konzentrationen gefunden als in späteren Lebensjahren (≥ 40 Jahre); die Referenzwerte dieser Altersgruppe (40–99 Jahre) unterscheiden sich nicht von denen der Männer und Kinder. Wir schlagen deshalb folgende Referenzbereiche vor (jeweils 2,5. bis 97,5. Perzentil):

Kinder, Männer sowie Frauen ab 40 Jahre: 3,5 bis 8,5 kU/l

Frauen (16–39 Jahre, nicht-schwanger, keine hormonalen Kontrazeptiva): 2,8 bis 7,4 kU/l

Frauen (18–41 Jahre, schwanger bzw. Einnahme von Kontrazeptiva): 2,4 bis 6,0 kU/l

Cholinesterase (EC 3.1.1.8) with butyrylthiocholine iodide as substrate:

Age- and sex-dependent reference values with special reference to hormonal effects and pregnancy

Summary: Reference values are reported for the assay of cholinesterase (substrate: butyrylthiocholine iodide) in serum at 25 °C. There was no evidence of any age-dependency or sex-specific distinction in children (1 to 15 years, N = 309), nor were there any age-dependent changes observed in males (16 to 94 years, N = 718). Compared with the reference range for children, there was no detectable difference in the location and distribution of catalytic cholinesterase concentrations.

In females (16 to 99 years, N = 861), an age-dependent difference in cholinesterase values became apparent:

Regardless of pregnancy or use of hormonal contraceptives, the catalytic concentrations were found to be lower in younger females (16 to 39 years) than in older ones (≥ 40 years); the reference values in the older age

group (40 to 99 years) did not differ from those of males and children. Therefore the following reference values are proposed (in each case 2.5 to 97.5 percentile):

Children, males and females above 40 years:	3.5 to 8.5 kU/l
Females (16–39 years, nonpregnant, not taking hormonal contraceptives):	2.8 to 7.4 kU/l
Females (18–41 years, pregnant or taking hormonal contraceptives):	2.4 to 6.0 kU/l

Einführung

Für die Bestimmung der katalytischen Konzentration der Cholinesterasen (Acylcholinacylhydrolase, EC 3.1.1.8) haben sich als Substrate Acetylthiocholin-iodid und Butyrylthiocholin-iodid durchgesetzt.

Für Acetylcholinesterasen liegen eingehende Untersuchungen vor zum Einfluß von Geschlecht, Alter und oralen Kontrazeptiva (1, 2, 3): Männer haben höhere katalytische Konzentrationen im Plasma oder Serum als Frauen. Bei Frauen, die hormonale Kontrazeptiva einnehmen, findet man niedrigere Werte als bei Frauen, die keine hormonalen Kontrazeptiva einnehmen. Nach dem 60. Lebensjahr werden bei Frauen erhöhte katalytische Konzentrationen gefunden. Geschlechtsspezifische Unterschiede sind ab diesem Alter nicht mehr nachweisbar. Bis zum 50. Lebensjahr soll bei Männern und Frauen keine Altersabhängigkeit bestehen. Man kann davon ausgehen, daß in der Schwangerschaft die katalytische Konzentration der Acetylcholinesterasen häufig erniedrigt ist (3). Für Pseudocholinesterasen (Substrat: Butyrylthiocholin-iodid) sind ähnlich umfangreiche Untersuchungen nicht bekannt geworden. Jedoch sind auch hier für Männer höhere Referenzwerte als für Frauen mitgeteilt worden (4, 5).

Wir haben deshalb Referenzwerte bei Kindern und Erwachsenen ermittelt und sind den genannten Einflüssen auf die katalytische Konzentration der Cholinesterase nachgegangen.

Material und Methoden

Reagenzien, Methoden, Geräte

Test-Combination Cholinesterase (EC 3.1.1.8, Substrat: Butyrylthiocholin-iodid, Best.-Nr. 124 133) sowie Testpackungen zur Bestimmung von Alaninaminotransferase (EC 2.6.1.2) und L-γ-Glutamyltransferase (EC 2.3.2.2) entstammten dem Lieferprogramm von Boehringer Mannheim GmbH, D-6800 Mannheim 31.

Nach der Arbeitsanleitung des Herstellers wurde an einem Reaction Rate Photometer von Vitatron (Dieren, Niederlande) die Zeit (t) in s für eine Absorptionsänderung von $\Delta A = 0,100$ bei 405 nm gemessen. Gegenüber der Originalmethode (6) ist der verwendete Test in Bezug auf die Substratkonzentration optimiert.

Endkonzentrationen im Test: 7 mmol/l Butyrylthiocholin-iodid; 50 mmol/l Phosphat-Puffer, pH 7,7; 0,25 mmol/l 5,5'-Dithiobisnitrobenzoesäure.

Berechnung: katalytische Konzentration (25 °C) [U/l] = $\frac{70376}{t}$.

Probanden

Das Referenzkollektiv der Kinder und Erwachsenen (N = 1888) umfaßt ambulante Patienten aus dem vorwiegend ländwirtschaftlich orientierten Einzugsbereich der Städte Kampen und Emmeloord (Mittelholland). Mit einem Erhebungsbogen wurden erfaßt: Alter, Geschlecht, Schwangerschaft, Einnahme von Ovulationshemmern. Im Kollektiv nicht enthalten sind Patienten mit schweren Erkältungen und grippalen Infekten. Zur Bildung des Referenzkollektivs wurden Patienten mit alkoholgefährdeten Berufen, Berufen im Chemie-Bereich sowie Patienten, bei denen eine Kontaminierung mit Insektiziden und Pestiziden möglich war, ausgeschlossen.

Patienten mit Über- oder Untergewicht (Abweichungen: mehr als 20% vom Normalgewicht) sind im Referenzkollektiv nicht enthalten. Auf eine generelle Medikamentenanamnese wurde verzichtet. Jedoch wurden von älteren Patienten (>60 Jahre) häufig Analgetika, Kardiaka und Antihypertonika eingenommen.

Zur Auswahl des Referenzkollektivs wurden außerdem klinisch-chemische Kenngrößen eingesetzt, welche bei Lebererkrankungen verändert sind. Referenzwerte: Alaninaminotransferase (37 °C): Männer bis 40 U/l, Frauen bis 35 U/l; L-γ-Glutamyltransferase (25 °C): Männer bis 28 U/l, Frauen bis 18 U/l.

Auf die Bestimmung der Dibucain-Zahl zur Erkennung von genetisch bedingtem Cholinesterase-Mangel haben wir verzichtet, weil dieser Stoffwechseldefekt relativ selten auftritt (Häufigkeit etwa 1:1500).

Probennahme und Qualitätssicherung

Die Blutabnahme erfolgte vormittags. Nach Lösen der Stauung wurde Blut für die Serumgewinnung abgenommen. Serum wurde durch 10 min Zentrifugation bei 2000 g erhalten und bei -20 °C eingefroren. Die katalytischen Konzentrationen der Alaninaminotransferase und der L-γ-Glutamyltransferase wurden jeweils nach 3 Wochen bestimmt. Wenn die gemessenen Werte innerhalb des vorgegebenen Referenzbereiches lagen und die Anamnese die Kriterien des Referenzkollektivs erfüllte, wurde die katalytische Konzentration an Cholinesterase in Doppelbestimmungen untersucht. Die katalytische Konzentration der Cholinesterase bleibt innerhalb des angegebenen Zeitraumes unverändert (7). Die Präzision der Meßergebnisse sowie die Wiederfindung an Cholinesterase wurden mit den Kontrollseren Precilip® (Chargen 763 und 764) und Hyland (Lot No. 2 and No. 4) ermittelt.

Präzision und Wiederfindung von Alaninaminotransferase und L-γ-Glutamyltransferase wurden mit anderen handelsüblichen Kontrollseren überprüft (Wiederfindung: $\pm 10\%$ des Sollwertes; VK_{Tag/Tag} <5%).

Statistische Methoden

Die Präzisionen in der Serie und von Serie zu Serie wurden mit Hilfe der einfachen Varianzanalyse berechnet.

Die Verteilung der Meßwerte wurde durch Angabe der Perzentile beschrieben. Da bei der Größe der vorliegenden Kollektive auch die Ränder der Verteilung der katalytischen Konzentrationen an Cholinesterase ausreichend gut erfaßt sind, haben wir uns entschieden, als Unter- bzw. Obergrenze das 2,5. bzw. 97,5. Perzentil anzugeben. Extreme Werte, die trotz der angewandten Ausschlußkriterien im Kollektiv enthalten sein könnten und die Grenzen des Referenzbereiches beeinflussen könnten, werden damit sicher ausgeschlossen. Zur Überprüfung der Einflußgrößen Alter, Geschlecht und Ovulationshemmer wurde der U-Test von Mann-Whitney eingesetzt (8). Für Kinder wurde geprüft, ob sich in Lage und Varianz der katalytischen Konzentrationen an Cholinesterase für Mädchen und Jungen Unterschiede zeigen (U-Test, Moses' rank like test, (9)). Als Irrtumswahrscheinlichkeit wurde jeweils $\alpha = 0,05$ festgelegt.

Ergebnisse

Qualitätssicherung

Tabelle 1 enthält die Ergebnisse der Qualitätssicherung von Cholinesterase in Kontrollseren. Die Präzision in der Serie und die Präzision von Tag zu Tag waren gut (VK: 2,0 bis 4,6%). Systematische Abweichungen zu den angegebenen Sollwerten wurden nur bei einem Kontrollserum (Hyland lot No. 2) beobachtet. Da jedoch jeweils zwei Kontrollseren von verschiedenen Herstellern eingesetzt wurden, kann unterstellt werden, daß sich die Analysenmethode während des gesamten Untersuchungszeitraumes unter Kontrolle befand.

Tab. 1. Cholinesterase: Wiederfindung und Präzision in Kontrollseren.

Kontrollserum	Herstellerangaben		N	Wiederfindung*					Präzision**		
	Sollwert [kU/l]	Bereich		Min.	5%	50%	95%	Max.	\bar{x} [kU/l]	VK _S [%]	VK _{T/T} [%]
Precilip® Charge 763	3,30	2,90–3,70	85	3,13	3,20	3,35	3,61	3,70	3,36	2,4	4,4
Precilip® Charge 764	3,34	2,80–3,87	12	3,20	3,20	3,28	3,44	3,44	3,28	2,5	2,8
Hyland Lot No. 2	3,26	2,95–3,57	44	3,28	3,35	3,61	3,91	3,91	3,62	2,0	4,6
Hyland Lot No. 4	3,06	2,62–3,50	57	2,82	2,87	3,00	3,13	3,21	3,01	2,4	3,3

* Die Werte geben das 5., 50. (Median), 95. Perzentil sowie niedrigste und höchste Mittelwerte aus N Doppelbestimmungen an für 30 Meßtage. Bei einer Serie von 20 Patientenseren wurden 2 Kontrollseren mitgeführt: Precilip® nach 10 Seren und Hyland nach 10 weiteren Seren.

** Die Präzision in der Serie bzw. von Tag zu Tag wurde aus N Doppelbestimmungen an 30 Meßtagen berechnet.

Tab. 2. Altersverteilung des Referenzkollektivs (N = 1888).

	Alter [Jahre]									Summe
	1–9	10–19	20–29	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	80–99	
Jungen und Männer	103	105	102	103	100	100	106	101	53	873
Mädchen und Frauen ohne hormonale Kontrazeption	104	97	50	50	91	104	101	109	68	774
Frauen mit hormonaler Kontrazeption			54	25						79
Schwangere		3	96	62	1					162

Altersverteilung des Referenzkollektivs

Tabelle 2 zeigt die Zusammensetzung des Referenzkollektivs von 1888 Probanden. Die Besetzung der einzelnen Altersgruppen ist relativ homogen, die Gruppen sind mit ausreichend vielen Personen belegt.

Referenzwerte bei Kindern

In Abbildung 1 ist die Verteilung der katalytischen Konzentrationen an Cholinesterase für Jungen und Mädchen im Alter von 1 bis 15 Jahren dargestellt. Eine Altersabhängigkeit der Cholinesterase-Werte war statistisch nicht nachweisbar; ein Unterschied in Lage und Verteilung der Cholinesterase-Werte zwischen Jungen und Mädchen ließ sich statistisch ebenfalls nicht absichern.

Der 95%-Bereich zwischen dem 2,5. und dem 97,5. Perzentil liegt bei Jungen zwischen 3,9 und 8,8 kU/l, bei Mädchen zwischen 3,2 und 8,5 kU/l (Tab. 3).

Referenzwerte bei Männern

In Abbildung 2 ist die Verteilung der katalytischen Konzentrationen an Cholinesterase für Männer (16–94 Jahre) wiedergegeben. Eine Altersabhängigkeit ist nicht erkennbar und statistisch nicht nachweisbar. Der 95%-Bereich liegt zwischen 3,2 und 8,5 kU/l (Tab. 4).

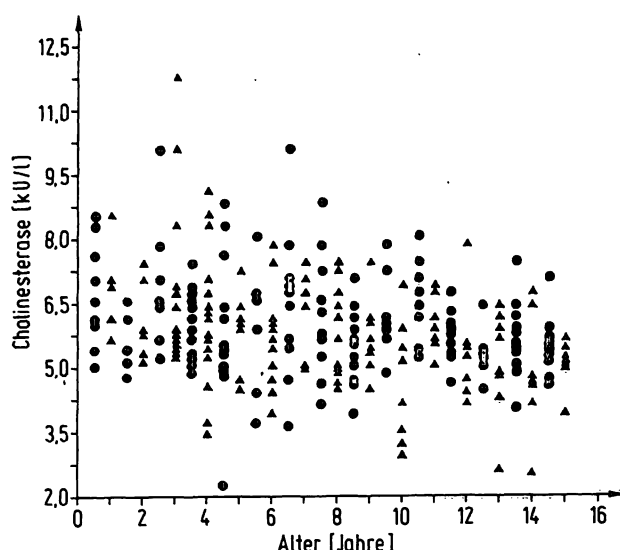


Abb. 1. Häufigkeitsverteilung der katalytischen Konzentrationen an Cholinesterase im Serum von Kindern (N = 309) in Abhängigkeit vom Alter (1 bis 15 Jahre).
Wegen der besseren Übersichtlichkeit wurden die katalytischen Konzentrationen bei Jungen gegenüber den Werten bei Mädchen um ein halbes Jahr versetzt eingezeichnet.
● Jungen (N = 155) ▲ Mädchen (N = 154)

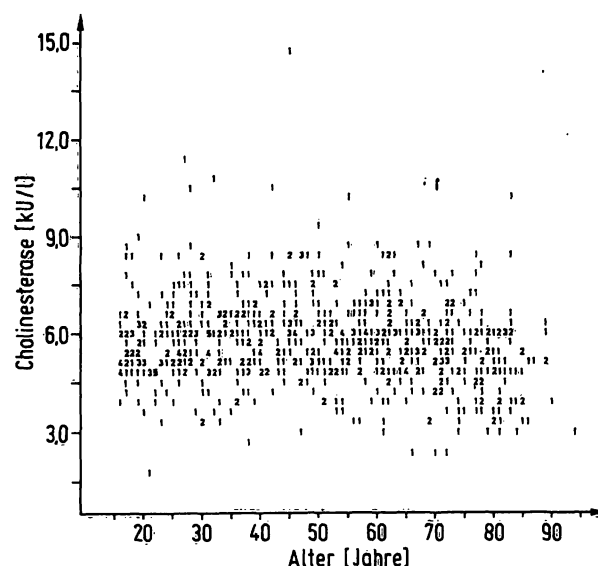


Abb. 2. Häufigkeitsverteilung der katalytischen Konzentrationen an Cholinesterase im Serum der Männer (N = 715) in Abhängigkeit vom Alter (16 bis 94 Jahre).

Tab. 3. Verteilung der katalytischen Konzentrationen an Cholinesterase bei Kindern.

Die Werte geben das 2,5., 5., 50 (Median), 95. und 97,5. Perzentil sowie niedrigste und höchste Meßwerte für N Kinder im Alter von 1 Jahr bis 15 Jahren an.

Prüfung auf Unterschiede zwischen Jungen und Mädchen (U-Test bzw. Moses' rank like test, $\alpha = 0,05$): keine Signifikanz.

N		Cholinesterase [kU/l]						
		Min.	2,5%	5%	50%	95%	97,5%	Max.
Jungen	155	2,27	3,91	4,47	5,87	8,04	8,80	10,05
Mädchen	154	2,51	3,20	3,91	5,63	7,82	8,53	11,73
Kinder	309	2,27	3,61	4,14	5,75	8,04	8,53	11,73

Tab. 4. Verteilung der katalytischen Konzentrationen an Cholinesterase bei Männern und Frauen.

Die Werte geben das 2,5., 5., 50. (Median), 95. und 97,5. Perzentil sowie niedrigste und höchste Meßwerte für N Männer und Frauen an.

Prüfung auf Unterschiede zwischen den Gruppen (U-Test, $\alpha = 0,05$):

Männer – Frauen (ohne hormonale Kontrazeption, 16 bis 39 Jahre):

Signifikanz

Frauen ohne hormonale Kontrazeption:

Altersgruppe 16 bis 39 Jahre – Altersgruppe 40 bis 99 Jahre:

Signifikanz

Frauen (mit hormonaler Kontrazeption) – Schwangere:

keine Signifikanz

	Alter [Jahre]	N	Cholinesterase [kU/l]						
			Min.	2,5%	5%	50%	95%	97,5%	Max.
Männer	16–94	715	1,74	3,20	3,70	5,63	8,28	8,53	14,82
Frauen:	16–39	147	2,20	2,82	2,93	4,69	7,04	7,41	9,38
ohne hormonale Kontrazeption	40–99	473	1,42	3,52	3,70	5,41	7,82	8,80	20,11
mit hormonaler Kontrazeption	20–39	79	2,35	2,43	2,71	3,91	5,41	5,86	5,86
Schwangere	18–41	162	1,58	2,35	2,43	3,70	5,86	6,55	7,61

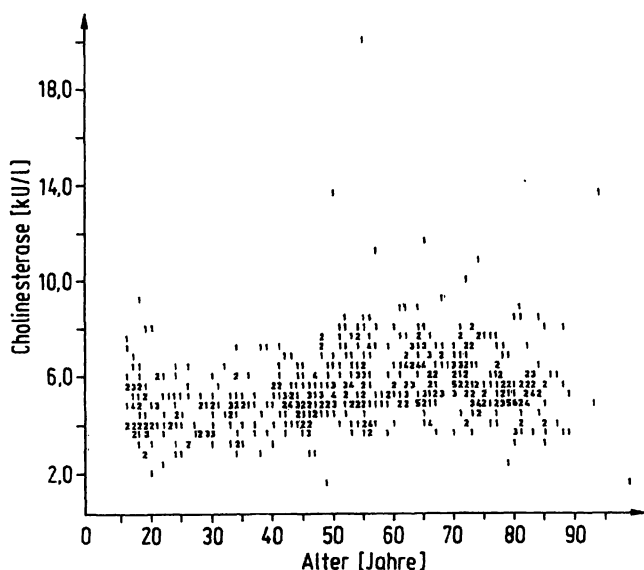


Abb. 3. Häufigkeitsverteilung der katalytischen Konzentrationen an Cholinesterase im Serum der Frauen (ohne hormonale Kontrazeptiva (N = 620) in Abhängigkeit vom Alter (16 bis 99 Jahre).

Referenzwerte bei Frauen

Abbildung 3 zeigt die Verteilung der katalytischen Konzentrationen an Cholinesterase für Frauen (16–99 Jahre, ohne hormonale Kontrazeption). Bis etwa 39 Jahre werden häufig niedrigere Werte als oberhalb dieser Altersgrenze gemessen. Die katalytischen Konzentrationen in den Altersgruppen 16–39 Jahre bzw. 40–99 Jahre zeigen einen Unterschied in der Lage, der sich statistisch nachweisen läßt. Dieser Unterschied ist jedoch erst im Rahmen der Daten-Analyse aufgefallen; das Testergebnis sollte deshalb nur zur Unterstützung einer entsprechenden Arbeitshypothese herangezogen werden. Der 95%-Bereich reicht von 2,8 bis 7,4 kU/l (16–39 Jahre) bzw. 3,5 bis 8,8 kU/l (40–99 Jahre) (Tab. 4).

Frauen, die hormonale Kontrazeptiva einnehmen, sowie Schwangere haben niedrigere, jedoch miteinander vergleichbare 95%-Bereiche: 2,4 bis 5,9 kU/l bzw. 2,4–6,6 kU/l. Die Prüfung auf Unterschiede der Cholinesterase-Werte zwischen diesen beiden Kollektiven ergab keine Signifikanz.

Diskussion

Die diagnostische Bedeutung der Cholinesterase liegt darin, daß ihr Verhalten als „Funktions- und Leistungsparameter der Leber“ von demjenigen der Aminotransferasen unabhängig ist und die Schwere einer akuten und das Stadium einer chronischen Lebererkrankung charakterisiert (10). Der Untergren-

ze des Referenzbereiches kommt damit eine besondere Bedeutung zu. Erhöhte katalytische Konzentrationen wurden besonders beim nephrotischen Syndrom gefunden (10).

Vergleicht man die bei Jungen und Männern gefundenen unteren Grenzen des 95%-Bereiches miteinander (3,9 kU/l bzw. 3,2 kU/l), so kann eine gemeinsame Untergrenze diskutiert werden. Für beide Kollektive besteht keine Altersabhängigkeit der katalytischen Konzentrationen an Cholinesterase, die Mediane als stabilste Lagekenngrößen unterscheiden sich praktisch nicht voneinander. Wir schlagen deshalb als gemeinsame Untergrenze des Referenzbereiches 3,5 kU/l, als Obergrenze 8,5 kU/l vor. Für Mädchen (1 Jahr–15 Jahre) und Frauen, die älter als 40 Jahre sind, läßt sich ebenfalls eine Altersabhängigkeit der katalytischen Konzentrationen an Cholinesterase nicht nachweisen. Die 95%-Bereiche beider Kollektive stimmen gut überein (3,2 bis 8,5 kU/l bzw. 3,5 bis 8,8 kU/l), so daß wir einen gemeinsamen Referenzbereich festlegen möchten: 3,5 bis 8,5 kU/l.

Damit ergeben sich für Kinder sowie auch Männer und Frauen über 40 Jahre dieselben Referenzwerte: 3,5 bis 8,5 kU/l.

Frauen im gebärfähigen Alter (16–39 Jahre) zeigen, unabhängig davon, ob hormonelle Einflüsse durch Kontrazeptiva oder Schwangerschaft vorliegen, niedrigere katalytische Konzentrationen an Cholinesterase. Für Frauen, die nicht schwanger sind und keine hormonalen Kontrazeptiva einnehmen, schlagen wir einen Referenzbereich von 2,8 bis 7,4 kU/l vor; für Schwangere bzw. Frauen, welche Kontrazeptiva einnehmen, ergibt sich ein Referenzbereich von 2,4 bis 6,0 kU/l.

Unsere Ergebnisse zeigen, daß in den bisherigen Referenzwertuntersuchungen für Pseudocholinesterasen Aspekte nicht berücksichtigt wurden, die für Acetylcholinesterasen teilweise bekannt waren. Eine nicht erfolgte Differenzierung der katalytischen Konzentrationen an Cholinesterase bei Frauen bzw. die Nichteinbeziehung von Schwangerschaft und oralen Kontrazeptiva muß deshalb zu undifferenzierten Schlußfolgerungen führen. Möglicherweise erklären sich so die Literaturangaben, daß Männer höhere katalytische Konzentrationen an Cholinesterase haben als Frauen (4, 5).

Danksagung

Für die sorgfältige Durchführung der Untersuchungen danken wir J. van Dijk, W. J. Pelleboer-Troost, J. Boonenmer-de Jong und C. A. Quartel.

Literatur

1. Sidell, F. R. & Kaminskis, A. (1975) *Clin. Chem.* 21, 1393–1395.
2. Robertson, G. S. (1967) *Lancet* I, 232–235.
3. Redderson, C. L. (1973) *Int. J. Clin. Pharmacol.* 8, 51–57.
4. Prellwitz, W., Kapp, S. & Müller, D. (1976) *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 14, 93–97.
5. Szasz, G. (1968) *Clin. Chim. Acta* 19, 191–204.
6. Knedel, M. & Böttger, R. (1967) *Klin. Wochenschr.* 45, 325–327.
7. Schwartz, M. K. (1973) *Adv. Clin. Chem.* 16, 10.
8. Conover, W. J. (1971) *Practical nonparametric statistics* J. Wiley & Sons, New York.
9. Hollander, M. & Wolfe, D. A. (1973) *Nonparametric statistical methods* J. Wiley & Sons, New York.
10. Adolph, L. (1979) *Münch. Med. Wochenschr.* 121, 1527–1530.

Dr. W. Tritschler
Boehringer Mannheim GmbH
Erprobung Diagnostica
Sandhofer Straße 116
D-6800 Mannheim 31

Drs. D. H. den Blaauwen, Klin. Chemiker
Dokter J. H. Jansenziekenhuis
NL-8300 GA Emmeloord (Niederlande)
und
Stadsziekenhuis „De Engelenbergstichting“
NL-8266 AB Kampen (Niederlande)